원 저

대한신경과학회지 17(3):359~364, 1999 ISSN 1225-7044

파킨슨병 환자 말초 혈액 단핵구의 D3와 D5 도파민 수용기 mRNA 발현

연세대학교 의과대학 신경과학교실 및 뇌연구소, 미생물학교실*

최철희 손영호 최선아 박동철 곽용태 최인홍* 김진수

D3 and D5 Dopamine Receptor mRNA Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Patients with Parkinson's Disease

Chulhee Choi, M.D., Young Ho Sohn, M.D., Sun Ah Choi, M.D., Dong Chul Park, M.D., Yong Tae Kwak, M.D., In-Hong Choi, M.D.*, Jin-Soo Kim, M.D.

Department of Neurology and Brain Research Institute, Department of Microbiology and Institute of Immunology and Immunological Disease, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background: Among 5 subfamilies of dopamine receptors (DAR), D3 and D5 DAR are expressed on peripheral blood mononuclear cells (PBMC). Recently, those DARs have been reported to change in Parkinson's disease (PD). **Methods**: We measured the DAR mRNA expression in PBMC from 15 PD patients who had never taken antiparkinson medication, and 16 age-matched healthy people by reverse transcription and quantitative competitive polymerase chain reaction. The βactin mRNA expression was also measured to evaluate the relative expression of DAR mRNA. **Results**: The D3 and D5 DAR mRNA expression was not different between patients and controls. In patients, no significant correlation was found between DAR mRNA expression in PBMC and clinical variables such as severity and duration of symptoms, and patients' age. **Conclusions**: We confirmed the presence of D3 and D5 DAR in PBMC. However, their mRNA expressions were not influenced by the disease process of PD.

J Kor Neurol Ass 17(3):359 ~ 364, 1999

Key Words : Parkinson's disease, Peripheral blood mononuclear cell, Dopamine receptor, messenger RNA, PCR

서 론

사람에서 파킨슨 증후군을 유발하는 MPTP(1-methyl 4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine)의 독성을 차단하는 monoamine oxidase 길항제가[1-3] 파킨슨병의 진행을 늦춘다는 사실이 밝혀지면서 파킨슨 병에 신경보호 치료의 새로운 개념이 도입되었다. 이러한 발견은 파킨슨 증상이 나타나기 이전의 단계에서 이 질환을 진단하고자 하는 노력으로 이어지게 되었으며,[4] 그 결과 18F-dopa를 이용한 PET (positron emission tomography)나[5] 도파민 운반체 (transporter)에 대한 선택적인 리간드를 이용한 SPECT (single photon emission computed tomography)를[6,7] 이용하여 증상이 발현되기 전에 중추신경계, 특히 기저핵 부위에서 감소된 도파민 신경원을 측정할 수 있게 되었다. 그러나 이러한 핵의학적인 검사 방법들은 고가의 장비와 전문 인력을 필요로 하며 따라서 널리 이용되지 못하는 한계가 있다. 이에 따라 보다 쉽게 파킨슨병을 진단할 수 있는 방법을 규명하려는 연구들이 시도되고 있다.[8]

도파민 수용기는 대부분 중추신경계의 도파민 신경원의 축삭이나 연접후 신경 세포에 존재하나,[9-11] 말초 혈액 단핵구에서도 D3 및 D5 도파민 수용기가 존재하는 것으로 밝혀졌다.[12-15] Nagai 등은 역전사 (reverse transcription) 중합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction; 이하 PCR)을 이용하여 파킨슨병 환자의 말초 혈액 단핵구에서 정상인에 비해 D3 도파민 수용기가 감소하며, 이러한 감소는 질병이 진행 정도와 비례한다고 하여, 이러한 D3 도파민 수용기를 측정하는 것이 파킨슨병의 진단에 이용될 가능성을 시사하였다.[16] 그러나 이들이 이용한 PCR 방법은 검사의 예민도가 매우 높기 때문에 정성적인 검사로는 적당하지만, 초기 조건에 따라 반응 산물의 차이가 현저하여 정량적인 검사로는 부적절하다.[17] 이에 저자들은 Nagai 등이

Manuscript received July 3, 1998.
Accepted in final form September 7, 1998.
* Address for correspondence
Young Ho Sohn, M.D.
Department of Neurology,
Yonsei University College of Medicine
C.P.O. Box 8044, Seoul, 120-752, Korea
Tel : +82-2-361-5460, Fax : +82-2-393-0705
E-mail : neuro@yumc.yonsei.ac.kr

이용하였던 역전사 PCR의 방법을 개선하여 초기 조건에 따른 변화를 최소화할 수 있는 방법을 고안하여 파킨슨병 환자의 조기 진단이나 진행 정도를 측정하는 척도로 말초 혈액 단핵구의 도파민 수용기 mRNA의 정량적 분석의 유용성을 규명하고자 이 연구를 수행하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

연구 대상은 이전에 어떠한 항파킨슨 약물도 투여 받았던 병력이 없는 파킨슨병으로 처음 진단된 15명의 환자와 비슷한 연령의 건강한 성인 16명을 연구에 포함시켰다. 파킨슨병의 진단은 CAPIT 위원회의 진단기준에 의거하였으며,[18] 대조군에서는 신경학적 검사상 파킨슨 증상이나 징후는 발견되지 않는 정상인을 대상으로 하였다. 환자군은 남자 6명, 여자 9명이었으며, 평균 연령은 60.5±2.1세였고, 대조군은 남자가 10명, 여자가 6명으로 평균 연령은 56.4±2.2세였다. 대조군에 속한 사람들 중 과거력상 항정신병 약물과 같은 도파민 길항제를 투여받은 병력이 있는 사람들은 제외하였다. 환자들의 평균 유병 기간은 34.4±5.8개월이었으며, Hoehn and Yahr stage상 stage I은 4명, stage II는 6명이었으며, stage III는 5명이었다.

2. 말초 혈액 단핵구의 분리

환자와 대조군의 정맥혈을 EDTA 항응고 처리된 시험관에 얻었다. 이를 동량의 phosphate-buffered saline에 희석한 후, 동량의 Ficoll-Paque (Pharmacia, Sweden)에 살며시 올려 놓고, 400×g에서 15분간 상온에서 원심분리 하였다. Ficoll-Paque과 혈액 사이의 경계에 분리된 단핵구들을 얻은 후 2차례 phosphate-buffered saline을 첨가한 후 원심분리하여 분리하였다.

3. 총 RNA의 분리와 역전사 반응

위와 같이 얻은 단핵구를 modified acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform 추출 방법[19]을 이용한 RNeasy Mini kit (Qiagen, Santa Claris, CA)를 사용하여 총 RNA를 분리하였다. First-strand complementary DNA는 4μg total RNA에서 0.2μg의 random hexanucleotide primers (Pharmacia, Uppsala, Sweden), 20units의 Molony murine leukiemia virus 역전사 효소 (Gibco BRL, Grand Island, NY). 10mM dNTP, 1X buffer(Gibco BRL, Grand Island, NY)와 H_2O를 이용하여 총 40μℓ되도록 하여 42℃에서 2시간동안 반응시켜 합성하였다. cDNA합성후 RNase를 억제하기 위해 10분간 boiling한 후 다음 반응을 진행하였다.

4. Polymerase Chain Reaction

이렇게 합성된 cDNA를 이용하여 Table과 같은 염기 서열의 D3 및 D5 도파민 수용기에 대한 forward primer와 reverse primer를 각각 10pmole mℓ$^{-1}$의 농도로 첨가하여 GeneAmp PCR system 9600 (Perkin Elmer)에서 PCR을 수행하였다. 또한 각 검체의 cDNA양이 같은 지를 보기 위하여 βactin에 대한 PCR을 수행한 후 각 검체의 양을 비교하였다.

Table. *Sequences of Forward and reverse primers for D5R, D3R and βactin.*

Target	Primer	Sequences
D5R	Sense	5'-TCAAGAGTTCCCTATCACTCT-3 '
	Antisense	5'-CTGTTCTTCAGGTTGAGGTG-3'
D3R	Sense	5'-ACGACATGGCTGGGCTACG-3
	Antisense	5'-ATTTGATTCTGGACCATGGC-3'
βactin	Sense	5'-CGTGGGCCGCCCTAGGCACCA-3'
	Antisense	5'-TTGGCCTTAGGGTTCAGGGGGG-5'

5배 PCR 완충용액에는 300mM Tris-HCl (pH 8.5), 75mM$(NH_4)_2SO_4$ and 12.5mM $MgCl_2$이 포함되게 하였다. 각 반응은 1.25mM dNTP, 각 primer 10 pmoles, 1 unit의 *Taq* polymerase (Takara, Japan), 1× PCR 완충용액과 H_2O를 합하여 최종 부피가 25μℓ가 되게 하였다. βactin, D3 및 D5 도파민 수용기에 대한 PCR의 반응 횟수는 각각 22, 34 및 35회였고, annealing 온도는 모두 59℃였다. PCR이 끝난 후 10μℓ의 반응 산물을 취해 1.5% agarose gel에서 전기영동 하였다. 이를 ethidium bromide로 염색한 후 U.V.하에서 각 band를 확인하였다. 각 band의 강도는 densitometric scanning image analyzer system (Genika, German)을 이용하여 분석하였다.

5. 경쟁성 template의 합성

βactin, D3 및 D5 도파민 수용기에 대한 경쟁적인 mutant template는 PCR MIMIC construction Kit (Clontech, CA)을 이용하여 합성하였다 (Fig. 1). 원래의 primer에 20개의 염기를 첨가한 composite primer를 합성하여 PCR MIMIC construction Kit에서 제공한 DNA template와 함께 첫번째 PCR을 시행하였다. 첫번째 반응의 산물에서 합성되지 않은 primer와 nucleotide를 제거하였다. 이후에 원래의 primer를 이용하여 희석한 첫번째 PCR 산물을 이용하여 두번째 PCR을 실시하였다. 여기에서 다시 합성되지 않은 primer와 nucleotide를 제거하고 spectrophotometry를 이용하여 DNA의 양을 정량한다. 정량적 상경적 PCR의 표준화를 위한 반응에 사용한 mutant template의 농도는 보통10^4 attomole μℓ$^{-1}$에서 시작하여 10배수로 희석하면서 검체의 cDNA와 일치하는 농도를 검색하였다.

6. 정량적 상경적 PCR의 표준화

PCR의 표준화에 사용된 cDNA는 정상인의 혈액을 1% PHA로 48시간동안 배양한 후 총 RNA를 분리하여 합성하였다. D3및 D5 도파민 수용기에 대한 상경적 정량적 PCR의 표준화를 위해서 먼저 검체의 cDNA는 일정양을

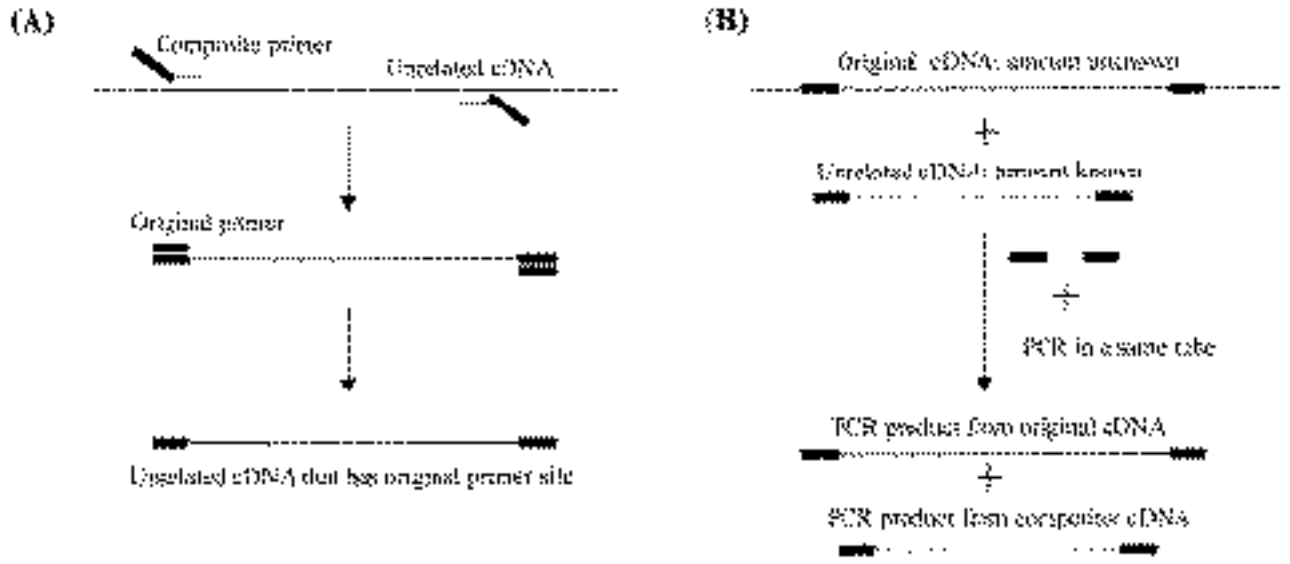

Figure 1. *Diagram of Competitive Quatitative RT PCR.* ***A.*** *Synthesis of mutant competitor cDNA that has identical primer site with original cDNA. First PCR was done with DNA template whose DNA sequence is different from that of original cDNA. The compos - ite primer which is used at the first PCR is composed with identical primer and additional primer which is unique to competitor cDNA. The second PCR is done with the first PCR product and original primers.* ***B.*** *Competitive RT PCR. During PCR, known amounts of competitor cDNA are added and the products of both original cDNA and competitor cDNA are different in size and can be differentiated by that. By standardization of the reaction, the cDNA can be determined.*

사용하고 위의 방법으로 합성한 mutant template를 10 attomole μℓ$^{-1}$에서 시작하여 2배수로 희석하여 가며 검체와 같은 tube에서 PCR을 시행하였다. βactin을 정량하기 위한 PCR의 경우mutant template를 10^4 attomole μℓ$^{-1}$의 농도에서 시작하여 2배수로 희석하였다. 이렇게 PCR을 시행한 후 검체의 cDNA와 같은 농도의 mutant template 농도를 결정한 후 이 농도의 mutant template를 최종 표준화 반응에 사용하였다. 최종적인 상경적 정량적 PCR의 표준화는 mutant template를 위의 방법으로 결정한 최적 농도로 고정시킨 후, 대조군으로 사용된 검체의 cDNA를 2배수로 희석하여 상대적인 값이 1에서 0.01까지 희석하며 PCR을 시행하였다.

7. βactin, D3 및 D5 도파민 수용기 mRNA에 대한 정량적 상경적 PCR

βactin, D3 및 D5 도파민 수용기에 대한 PCR은 각각의 primer와 검체의 농도와 가장 유사한 최적 농도로 경쟁적 mutant template를 희석하여 위에서 언급한대로 시행하였다. PCR이 끝난 후 10μℓ의 반응 산물을 취해 1.5% agarose gel에서 전기 영동을 하였다. 이를 ethidium bromide로 염색한 후 U.V.하에서 각 band를 확인하였다. 각 band의 강도는 densitometric scanning image analyzer system (Genika, German)을 이용하여 분석하였다. mutant band와 원 band간의 비를 구하여 최종 검체의 cDNA 농도를 표준 방정식에서 구하였다. 이렇게 구한 값은 각 검체의 β actin cDNA 값에 보정하여 환자군과 대조군 간에 비교하였다.

8. 자료 분석 및 통계

모든 자료는 평균±표준오차로 표기하였다. 환자군과 대조군 간의 측정치를 비교하기 위해서 unpaired t-test를 시행하였으며, 환자군의 임상 양상과 도파민 수용기의 발현 정도의 연관관계를 검증하기 위해 Spearman's correlation 분석을 하였다. 상경적 정량적 PCR의 표준 방정식을 구하기 위해 Pearson's R test를 시행하였으며, 모든 통계치는 p값이 0.05 이하인 경우를 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. βactin, D3 및 D5 도파민 수용기의 PCR에 대한 표준화

βactin에 대한 mutant template는 위에서 언급한대로 two-step PCR을 통해 합성하여, 10^4 attomoles μℓ$^{-1}$의 농도 (M_0)로 희석하였다. M_0의 농도에서부터 2배수로 희석한 mutant template 1μℓ를 대조 cDNA 1μℓ (total RNA 100ng μℓ$^{-1}$)와 함께 PCR을 실시하였다. 대조 검체의 βactin cDNA의 농도의 계산치는 5×10^3 attomoles μℓ$^{-1}$였다. 이차 PCR은 10^3 attomoles μℓ$^{-1}$의 mutant template와 1ng total RNA mℓ$^{-1}$에서 0.01ng total RNA mℓ$^{-1}$의 농도로 희석된 대조 cDNA와 함께 실시하였다(Fig. 2a). mutant와 wild band의 비는 대조 cDNA와 높은 상관 관계를 보였다 (R^2=0.90, p=.015) (Fig. 2b). 표준 곡선에서 유도된 방정식은 ln [sample βactin cDNA]={ratio(wild/mutant band)+59.2}/22.5이었다.

D3 및 D5 도파민 수용기에 대한 PCR도 같은 방식으로 진행되었으며, 표준 곡선의 방정식은 각각 ln[sample D3

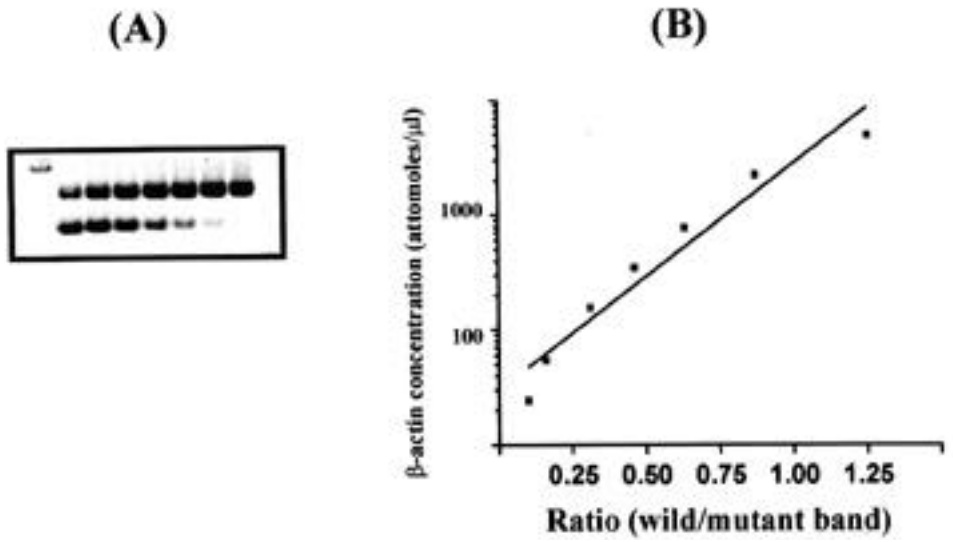

Figure 2. *Standard curve of QC PCR for βactin, D5R and D3R.* ***A.*** *Agarose-gel electrophoresis(1.5%) of QC PCR for the stan - dardization of βactin. Upper bands(429bp) are products of the mutant template in which concentrations are fixed at 10^3 attomoles $\mu\ell^{-1}$. Lower bands correspond to wild products(260bp). Lane 1; DNA marker(100bp). 2-8; QC PCRs with diluted samples(sample dilution factor; 1, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 0.02, 0.01).* ***B.*** *Semi-logarithmic plot of the ratio of two bands and the calculated concentration of sample βactin. The R value of linear association is 0.95(Pearson's R test, p = 0.02).*

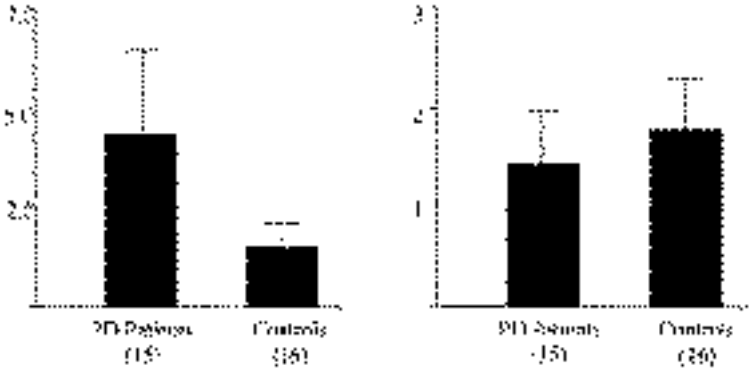

Figure 3. *D3R/βactin(A) and D5R/βactin(B) ratio(%) of PD patients and controls. The boxes represent the mean values of the D3R/βactin and D5R/ βactin ratio(%) in each group and bars show the standard errors of means.*

receptor cDNA]= {ratio(wild/mutant band)-158.0}/25.3(R2=0.99, p<0.001), ln[sample D5 receptor cDNA]= {ratio(wild/mutant band)-95.94}/12.65(R2= 0.88, p=0.001) 이었다.

2. βactin, D3 및 D5 도파민 수용기 mRNA의 정량

βactin에 대한 상경적 정량적 PCR은 mutant template를 10^3 attomoles $\mu\ell^{-1}$추가한 후 시행하였으며, D3 및 D5 도파민 수용기에 대하여는 1 attomoles $\mu\ell^{-1}$의 mutant template와 경쟁적으로 PCR을 실시하였다. 환자와 대조군에서 얻은 검체의 βactin 농도는 대략 10-10^3 attomoles $\mu\ell^{-1}$ cDNA였으며, D3 및 D5 도파민 수용기는10^{-2}--10^2 attomoles $\mu\ell^{-1}$ cDNA 정도였다. D3 도파민 수용기/βactin 비 (%)는 환자군에서 4.32±2.10였으며, 대조군에서는 1.51±0.58로 통계적으로 의의있는 차이를 보이지 않았다(p=0.20, t-test, Fig. 3a). 또한 D5 도파민 수용기/βactin의 비(%)도 환자군에서 1.43±0.52, 대조군에서 1.77±0.52로 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (p=0.65, t-test, Fig. 3b). D3 도파민 수용기/βactin비와 D5 도파민 수용기/βactin 비 (r=0.14), 환자의 연령 (r=0.09), 유병 기간 (r=0.14)간에 통계적으로 유의한 상관 관계는 관찰되지 않았다.

고 찰

이 연구에서 파킨슨병 환자의 말초 혈액 단핵구에서 도파민 수용기 mRNA를 정량한 결과 D3 및 D5도파민 수용기 mRNA의 발현이 정상군에 비해 유의한 차이가 없었으며, 파킨슨병의 진행 정도나 유병 기간 등과도 유의한 상관관계를 관찰할 수 없었다. 따라서 말초 혈액 단핵구에서 도파민 수용기 mRNA의 발현 정도를 정량함으로써 파킨슨병의 진단이나 혹은 진행 정도의 척도로 이용할 수 없음을 알 수 있었다. 이는 Nagai 등이 파킨슨병 환자의 말초 혈액

단핵구에서 D3 도파민 수용기의 감소를 보고한 것과는[16] 상반되는 결과로서, 이러한 차이는 mRNA를 측정하는 방법의 차이에 기인한 것으로 생각된다. 역전사 PCR은 적은 수의 세포에서 표현되거나 혹은 아주 적은 양만이 전사되는 mRNA를 검출하는데 유용하지만, 반응의 효율에 영향을 줄 수 있는 인자의 아주 적은 변화에 의해서도 결과에 큰 영향을 끼치기 때문에 정량적인 방법으로는 한계가 있다.[17] 이러한 문제를 해결하기 위하여 βactin과 같은 세포의 활성에 비교적 영향을 받지 않는 분자에 대한 PCR을 같은 시험관내에서 시행함으로써 초기 변화의 차이를 최소화하려는 방법을 반정량적인 (semi-quantitative) PCR이라 하며, Nagai 등은 바로 이러한 방법을 이용하여 말초 혈액 단핵구에서 도파민 수용기의 발현을 측정하였다. 이 방법은 Mg^{2+}, Taq polymerase와 dNTP의 농도, 연쇄반응의 수, 반응 온도, 각 연쇄반응 단계의 길이와 같은 인자들을 공통으로 공유함으로써 PCR의 초기 조건에 따른 실험의 오차를 최소화할 수 있는 장점이 있으나, 이 경우에도 primer와 template의 융점과 template의 농도가 다르기 때문에 정확한 정량에는 한계가 있다.[17] 이에 본 연구에서 측정하려는 cDNA와는 다른 염기서열을 가지지만 PCR primer 염기서열은 동일한 mutant DNA를 합성하여 같은 시험관내에서 모든 조건을 일치시킨 상태에서 PCR을 시행함으로써 경쟁이 되는 mutant DNA의 산물과 양을 모르는 검체의 cDNA 산물의 비는 다른 PCR 조건과는 상관없이 초기의 mutant DNA와 검체 cDNA양의 비에 일정하게 나타나게 된다.[17,20] 따라서 미리 두 산물의 농도를 적절히 조절하여 얻은 표준 곡선의 방정식을 구하고 반응 후 측정된 두 산물의 비를 이 방정식에 대입하여 구하고자 하는 검체의 cDNA 농도를 측정할 수 있다. 이러한 방법의 정확성을 평가하기 위해 Fig. 2에서 보는 바와 같이 mutant DNA의 양을 고정한 후 검체의 양을 희석하며 표준 곡선의 방정식을 구해볼 때 통계학적으로 유의한 선형관계를 얻을 수 있었으며, 이는 이 방법이 mRNA의 정량에 사용할 수 있는 적절한 방법임을 입증하는 것으로 생각되고 있다. 따라서 이 연구에서 사용한 mRNA 발현의 측정 방법은 Nagai 등이 사용하였던 방법의 단점을 보완한 것으로서 Nagai 등의 결과보다는 이 연구의 결과가 좀 더 신뢰성이 있을 것으로 생각된다.

말초 혈액 단핵구에서 관찰되는 도파민 수용기의 역할에 대하여는 아직까지 알려진 바가 없다.[13] Nagai 등은 파킨슨병 환자들의 말초혈액 단핵구에서 D3 도파민 수용기의 발현이 감소되어 있고, 이러한 감소는 질병의 진행 정도와 유의한 상관관계가 있으므로, 말초혈액 단핵구 도파민 수용기의 발현 정도는 중추신경계의 도파민 수용기의 발현 상태를 반영하는 것이라고 주장하였다.[16] 그러나 이들의 연구가 이미 언급한 바와 같은 mRNA 측정 방법상의 문제점이 있으며, 이를 보완하여 시행한 본 연구에서는 유의한 상관관계가 관찰되지 않아 Nagai 등의 주장에는 다소 무리가 있는 것으로 생각된다. 실제로 항파킨슨 약제를 복용하지 않은 파킨슨 환자에서 중추신경계의 도파민 수용기는 정상이거나 오히려 증가하는 양상을 보이는 것으로 보고되어[21] 비록 말초 혈액 단핵구 도파민 수용기의 발현 정도가 중추신경계의 도파민 수용기의 상태를 반영한다고 할 지라도 Nagai 등의 연구 결과와는 잘 일치하지 않는 것으로 생각된다.

파킨슨병에서 면역 기능의 변화에 대하여는 많은 보고들이 있었으며, 특히 중추신경계 내의 면역 체계의 활성화는 파킨슨병에서 신경퇴화가 일어나는 기전의 하나로 생각되고 있다.[22] 이러한 면역 체계의 변화는 중추신경계 뿐만이 아니라 말초 혈액내에서도 관찰되는 것으로 알려져 있는데, 면역 기능의 측정 방법에 따라, 면역 기능이 증가하거나 억제된다고 하는 등 이에 대하여는 아직까지 일치된 결론이 없다.[23,24] 일부에서는 이러한 말초 혈액 내에서 면역 기능의 변화가 질병 자체보다는 levodopa 제제의 투여에 의해 이차적으로 유발되었을 가능성이 높다는 주장도 있으며,[25] 이러한 사실들은 말초 혈액 단핵구 도파민 수용기가 면역 기능의 조절에 관여할 가능성을 시사한다. 이러한 경우 말초 혈액 단핵구 도파민 수용기의 발현 정도는 파킨슨병의 진단적 표식자로 사용될 수는 없을 것으로 생각되며, 비록 파킨슨병에서 말초 혈액의 면역기능 변화가 보고되고는 있으나 이 연구의 결과를 참조할 때 도파민 수용기의 변화를 초래하지는 않는 것으로 생각된다.

결론적으로 저자들은 이전의 보고에서 발표한 바와 같이 말초 혈액 단핵구에서 D3 및 D5 도파민 수용기가 존재한다는 사실을 확인하였으며, Nagai 등의 보고와는 달리 이러한 도파민 수용기의 발현이 파킨슨씨병과 연관되어 변화하지는 않는다는 것을 알게 되었다.

결 론

말초 혈액 단핵구 세포에서 총 RNA를 분리한 후 역전사 중합효소 연쇄반응을 이용하여 D3와 D5 도파민 수용기 mRNA의 발현을 확인하였으며, 이들에 대한 각각의 mutant DNA template를 합성한 후 상경적 정량적 중합효소 연쇄반응을 실시하여 각 검체의 D3와 D5 도파민 수용기 mRNA를 정량하였다. 이러한 방법을 이용하여 기존에 약물 투여를 받은 적이 없는 15명의 파킨슨병 환자와 16명의 대조군에서 말초 혈액 단핵구 세포에서의 도파민 수용기의 발현 정도를 정량한 결과 두 군간에 의미있는 차이를 발견할 수 없었으며, 환자군내에서 이러한 도파민 수용기의 전사 정도와 환자의 연령, 파킨슨 증상의 정도, 유병 기간 사이에 유의한 상관 관계는 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 말초 혈액 단핵구 세포에서 도파민 수용기 mRNA의 발현 정도는 이전의 리간드를 이용한 연구 결과들과는 다르게 파킨슨병에서 대조군과 비교하여 차이가 없었으며, 따라서 말초 혈액 단핵구에 발현되어 있는 도파민 수용기를 파킨슨병의 말초 표식 인자로 사용할 수 없음을 알 수 있었다.

REFERENCES

1. Tetrud JW, Langston JW. The effects of deprenyl(selegiline) on the natural history of Parkinson's disease. *Science* 1989;245:519-522.
2. Olanow CW, Hauser RA, Gauger L, et al. The effect of deprenyl and levodopa on the progeression of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1995;38:771-777.
3. Olanow CW. Attempts to obtain neuroprotection in Parkinson's disease. *Neurology* 1997;49(Suppl 1):S26-S33.
4. Koller WC, Montgomery EB. Issues in the early diagnosis of Parkinson's disease. *Neurology* 1997;49(Suppl 1):S10-S25.
5. Sawle GV, Playford ED, Brooks DJ, Quinn N, Frackowiak RS. Asymmetrical presynaptic and postsynaptic changes in the striatal dopamine projection in dopa naive parkinsonism. Diagnostic implications of the D2 receptor status. *Brain* 1993;116:853-867.
6. Brucke T, Asenbaum S, Pozzera A, et al. Dopaminergic nerve cell loss in Parkinson's disease quantified with [I-123]-?-CIT and SPECT correlates with clinical findings. *Mov Disord* 1994;9[suppl 1]:120.
7. Seibyl J, Marek K, Smith E, et al. I-βCIT SPECT imaging in idiopathic Parkinson's disease: correlation of striatal binding abnormality with disease severity. *Mov Disord* 1994;9[suppl 1]:89.
8. Oertel WH, Bandmann O, Eichhorn T, Gasser T. Peripheral markers in Parkinson's disease. In: Battistin L, Scarlato G, Ruggieri S, eds. *Advances in Neurology*. vol 69. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996;283-291.
9. Bouthenet ML, Souil E, Martres MP, Sokoloff P, Giros B, Schwartz JC. Localization of dopamine D3 receptor mRNA in the rat brain using in situ hybridization histochemistry: comparison with dopamine D2 receptor mRNA. *Brain Res* 1991;564:203-219.
10. Herroelen L, De Backer JP, Wilczak N, Flamez A, Vauquelin G, De Keyser J. Autoradiographic distribution of D3-type dopamine receptors in human brain using [3H]y-hydroxy-N,N-di-n-propyl-s-aminotetralin. *Brain Res* 1994;648:222-228.
11. Laurier LG, O'Dowd BF, George SR. Heterogenous tissue-specific transcription of dopamine receptor subtype messenger RNA in rat brain. *Brain Res Mol Brain Res* 1994;25:344-350.
12. Vile JM, Strange PG. High-affinity binding sites for neuroleptic drugs in human peripheral blood lymphocytes and their relation to dopamine receptors. *Biochem Pharmacol* 1995;49:747-753.
13. Ricci A, Mariotta S, Greco S, Bisetti A. Expression of dopamine receptors in immune organs and circulating immune cells. *Clin Exp Hypertension* 1997;19:59-71.
14. Nagai Y, Ueno S, Saeki Y, Soga F, Yanagihara T. Expression of the D3 dopamine receptor gene and a novel variant transcript generated by alternative splicing in human peripheral blood lymphocytes. *Biochem Biophys Res Comm* 1993;194:368-374.
15. Takahashi N, Nagai Y, Ueno S, Saeki Y, Yanagihara T. Human peripheral blood lymphocytes express D5 dopamine receptor gene and transcribe the two pseudogenes. *FEBS* 1992;314:23-25.
16. Nagai N, Ueno S, Saeki Y, Soga F, Hirano M, Ynagihara T. Decrease of the D3 dopamine receptor mRNA expression in lymphocytes from patients with Parkinson's disease. *Neurology* 1996;46:791-795.
17. Gilliland G, Perrin S, Blanchard K, Bunn HF. Analysis of cytokine mRNA and DNA: Detection and quantitation by competitive polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;87:2725-2729.
18. Langston JW, Widner H, Goetz CG, et al. Core assessment program for intracerebral transplantation(CAPIT). *Mov Disord* 1992;7:2-13.
19. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-159.
20. Zhang J, Byrne CD. A novel highly reproducible quantitative competitive RT PCR system. *J Mol Biol* 1997;274: 338-352.
21. Rinne JO, Laihinen A, Lonnberg P, Mafjamaki P, Rinne UK. A post-mortem study on striatal dopamine receptors in Parkinson's disease. *Brain Res* 1991;556:117-122.
22. Appel SH, Smith SG, Le WD. Immune-mediated cell death in neurodegenerative disorders. *Adv Neurol* 1996;69:153-159.
23. Kuhn W, Muller T. Neuroimmune mechanisms in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 1995;46:229-233.
24. Kluter H, Vieregge P, Stolze H, Kirchner H. Defective production of interleukin-2 in patients with idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Sci* 1995;133:134-139.
25. Boukhris W, Kouassi E, Descotes J, Cordier G, Revillard JP. Impaired T-dependent immune response in L-dopa treated BALB/c mice. *J Clin Lab Immunol* 1987;23:185-189.